


الجلسة الأولى: مقدمة عن الكيمياء الحيوية وقواعد الأمان المخبري

1- تعريف الكيمياء الحيوية

الكيمياء الحيوية هي فرع من فروع العلوم يدرس العمليات الكيميائية التي تحدث داخل الكائنات الحية أو المرتبطة بها. وهي علم مختبري يجمع بين علم الأحياء والكيمياء، ويستخدم المعرفة الكيميائية والتقنيات لتحليل وفهم المشكلات البيولوجية.

2- تقسيم الكيمياء الحيوية

تنقسم الكيمياء الحيوية إلى قسمين رئيسيين:

- **الكيمياء الحيوية الوصفية (التصويرية):** تركز على دراسة التركيب الكيميائي للجزيئات الحيوية وكيف يؤثر هذا التركيب على وظيفتها داخل الكائنات الحية. تشمل هذه الدراسة الجزيئات الكبيرة مثل البروتينات، التي تلعب دورًا حيويًا في الإنزيمات وبناء الخلايا؛ الأحماض النووية، التي تخزن وتنقل المعلومات الوراثية؛ الدهون، التي تشكل الأغشية الخلوية وتعمل كمخزن للطاقة؛ والكربوهيدرات، التي توفر الطاقة وتساهم في التركيب الهيكلي للكائنات الحية.

- **الكيمياء الحيوية الحركية:** تهتم بدراسة التفاعلات الكيميائية الحيوية من حيث السرعة والعوامل المؤثرة عليها. تركز على كيفية تنظيم هذه التفاعلات من قبل الإنزيمات، وكيف تؤثر درجة الحرارة، درجة الحموضة(pH) ، وتركيز المواد المتفاعلة على سرعة التفاعل.

3-الجزيئات الحيوية

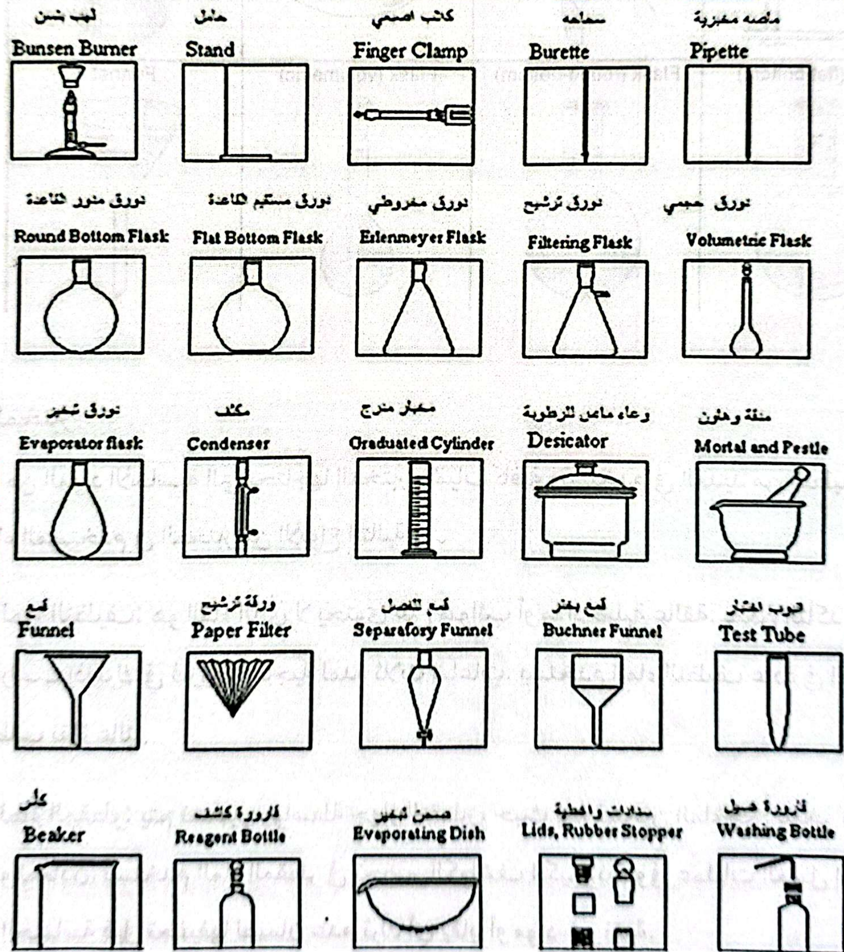
الجزيئات الحيوية هي جزيئات عضوية أساسية موجودة في الكائنات الحية وتشمل:

- البروتينات: تتكون من الأحماض الأمينية وتلعب دورًا في الإنزيمات والهياكل والنقل.
- الكربوهيدرات: تشمل السكريات والنشويات التي تعد مصدرًا للطاقة ومكونات هيكلية.
- الدهون: تشمل الدهون والزيوت التي تشكل جزءًا من الأغشية الخلوية وتخزين الطاقة.
- الأحماض النووية: مثل DNA وRNA، وهي مسؤولة عن تخزين ونقل المعلومات الوراثية.

4- أهم الأدوات الزجاجية اللازمة في المختبر للكشف عن الجزيئات الكبيرة

لإجراء التفاعلات المختبرية للكشف عن الجزيئات الكبيرة، يجب توافر الأدوات الزجاجية التالية:

- **الكؤوس الزجاجية** :لخلط المحاليل وإجراء التفاعلات البسيطة.
- **أنابيب الاختبار** :لإجراء التفاعلات الصغيرة ومراقبتها.
- **الأسطوانات المدرجة** :لقياس حجم السوائل بدقة.
- **الممصات** :لنقل كميات محددة من السوائل.
- **دورق مخروطي (دورق إرلنماير)** :لخلط المحاليل دون تسرب.
- **السحاحات** :لإجراء تجارب المعايرة والتحكم في كميات السوائل.
- **الأدوار الحجمية** :لتحضير المحاليل القياسية بدقة.



Chemical (liquid)	Chemical (solid)	Clamp	Clamp stand
Clip (Hoffman)	Clip (Mohr's)	Evaporating basin	Flask (conical)
Flask (flat-bottom)	Flask (round-bottom)	Flask (volumetric)	Funnel

5- ماء المختبر:

يعد الماء من المواد الأساسية التي يحتاجها المختبر بكميات كافية ويستخدم في العديد من التطبيقات. يمكن أن يكون الماء المستخدم في المختبر من الأنواع التالية:

الماء النظيف: هو الماء الذي لا يحتوي على شوائب أو مواد صلبة عالقة. يمكن التأكد من نظافته بعدم تكوّن أي راسب إذا تُرك في قارورة زجاجية لمدة ثلاث ساعات. يستخدم الماء النظيف عادة في العمليات الأساسية التي لا تتطلب نقاءً عاليًا.

الماء المقطر: يتم تحضيره بواسطة جهاز التقطير، حيث يتم تسخين الماء حتى يتبخر ثم تكثيفه لإزالة الشوائب والمعادن. يُستخدم الماء المقطر في تحضير الكواشف الكيميائية وفي عمليات الغسل الأخيرة للأدوات الزجاجية الحساسة قبل تجفيفها لضمان عدم ترك أي بقايا أو مواد غير نقية.

6- قواعد الأمان المخبري في مختبر الكيمياء الحيوية

للحفاظ على بيئة عمل آمنة، يجب اتباع القواعد التالية:

- **ارتداء المعدات الواقية** :يجب دائمًا ارتداء معاطف المختبر والقفازات والنظارات الواقية.
- **تجنب الأكل والشرب** :يجب عدم تناول الطعام أو الشراب في المختبر.
- **التعامل الصحيح مع المواد الكيميائية** :يجب قراءة الملصقات واستخدام تقنيات التعامل المناسبة.
- **العمل في منطقة جيدة التهوية** :خاصة عند التعامل مع المواد الكيميائية المتطايرة أو الضارة.
- **معرفة مخارج الطوارئ والمعدات** :يجب أن تكون على دراية بمواقع طفايات الحريق ومحطات غسل العيون ودش الأمان.

الإسعاف الأولي في حوادث المختبر

في حال وقوع حادث في المختبر، من الضروري التصرف بسرعة واتباع الإجراءات المناسبة لتجنب تفاقم الإصابة. فيما يلي بعض الإسعافات الأولية المهمة:

- **الحروق الكيميائية:** إذا تعرض الجلد أو العينين لمواد كيميائية، يجب شطف المنطقة المصابة بكمية كبيرة من الماء الجاري لمدة لا تقل عن 15 دقيقة. يجب إزالة الملابس الملوثة بالمواد الكيميائية بعناية.
- **الحروق الحرارية:** في حال التعرض لحروق نتيجة ملامسة أدوات ساخنة أو مواد حارقة، يجب وضع المنطقة المصابة تحت ماء بارد لمدة 10-20 دقيقة لتخفيف الألم والحرارة، مع الحرص على عدم استخدام الثلج مباشرة على الحروق.
- **الانسكابات الكيميائية على الملابس:** في حال انسكاب مادة كيميائية على الملابس، يجب إزالة الملابس فورًا وغسل الجلد تحت الماء الجاري لتجنب الامتصاص عبر الجلد.
- **التعرض للمواد الكيميائية المستنشقة:** في حال استنشاق غازات أو أبخرة سامة، يجب إخراج الشخص المصاب إلى مكان مفتوح وجيد التهوية فورًا. إذا كانت الحالة خطيرة، يجب طلب المساعدة الطبية.
- **الجروح:** إذا حدث جرح أثناء العمل بالمختبر، يجب تنظيف الجرح بماء نظيف وتطهيره بمطهر، ثم تغطيته بضمادة معقمة. إذا كان الجرح عميقًا أو يستمر بالنزف، يجب طلب الرعاية الطبية.

تجهيزات مفيدة للإسعاف الأولي في المختبر

للتعامل مع الحوادث في المختبر بشكل فعال، يجب توفر التجهيزات التالية:

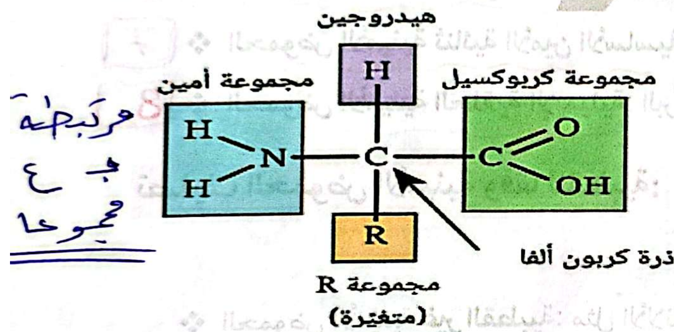
- **محطة غسل العيون:** تستخدم في حالة دخول مواد كيميائية إلى العينين لشطفها فورًا بالماء النظيف.
- **دش الأمان:** يستخدم لغسل الجسم بالكامل في حال التعرض لانسكاب كميات كبيرة من المواد الكيميائية على الملابس أو الجلد.
- **صندوق الإسعافات الأولية:** يجب أن يحتوي على ضمادات، مطهرات، كريمات للحروق، وأدوات لتعقيم الجروح.
- **طفاية الحريق:** يجب أن تكون في متناول اليد للتعامل مع أي حرائق صغيرة قد تحدث نتيجة تفاعلات كيميائية غير متوقعة.
- **أجهزة التهوية:** مثل الأقنعة وأجهزة التنفس، لاستخدامها في حالة تسرب مواد سامة أو مهيجة.

الجلسة الثانية: الاختبارات العامة والكيفية لكشف الحموض الأمينية

اولاً: الحموض الأمينية

تتكون الحموض الأمينية من تصميم أساسي يتألف من كربون مركزي (يسمى الفا كربون) مرتبط بـ:

- ✓مجموعة كربوكسيل.
- ✓مجموعة أمينية.
- ✓سلسلة جانبية نوعية للحمض الأميني ندعوها المجموعة R



- لذلك فإن ما يميز الحموض الأمينية عن بعضها البعض هو هذه السلسلة الجانبية وهي التي تحدد الخواص الكيميائية لهذه الحموض.

- ترتبط الحموض الأمينية مع بعضها البعض بواسطة روابط ببتيدية تنتج عن تكاثف مجموعة كاربوكسيل من أحد الحموض الأمينية للحمض الأميني الآخر.

- يوجد في الطبيعة حوالي 300حمض أميني. ومن بين هذه الحموض يوجد 20حمض أميني يدخل في تركيب البروتينات الموجودة في الجملة الحيوية.

- **تصنيف الحموض الأمينية:** اعتماداً على

يمكن تصنيف الحموض الأمينية بعدة طرق مختلفة اعتماداً على القطبية، البنية، الحاجة الغذائية، المسار الاستقلابي،... إلخ. وبشكل عام يعتمد التصنيف المتبع على القطبية





السؤال يختار الفالين من أ ن

- تصنيف الحموض الأمينية وفقا للمجموعة الفعالة R

1 ❖ الحموض الأمينية الأليفاتية: الغليسين، الألانين، الفالين، اللوسين، الإيزولوسين

2 ❖ الحموض الأمينية العطرية: الفينيل ألانين، التيروزين، التريبتوفان

3 ❖ الحموض الأمينية الهيدروكسيلية: السيرين، التيرونين

4 ❖ الحموض الأمينية ثنائية الكربوكسيل الحامضية: حمض الأسبارتيك، حمض الغلوتاميك.

5 ❖ الحموض الأمينة الأميدية: أسبارجين، غلوتامين.

6 ❖ الحموض الأمينية الكبريتية: السيستئين، المتيونين. SH-

7 ❖ الحموض الأمينية ثنائية الأمين الأساسية: أرجنين، ليزين، هستدين.

8 ❖ الحموض الأمينية الحلقية الإيمينية: البرولين

تصنيف الحموض الأمينية وفقا للقطبية:

❖ الحموض الأمينية غير القطبية: مثل الألانين.

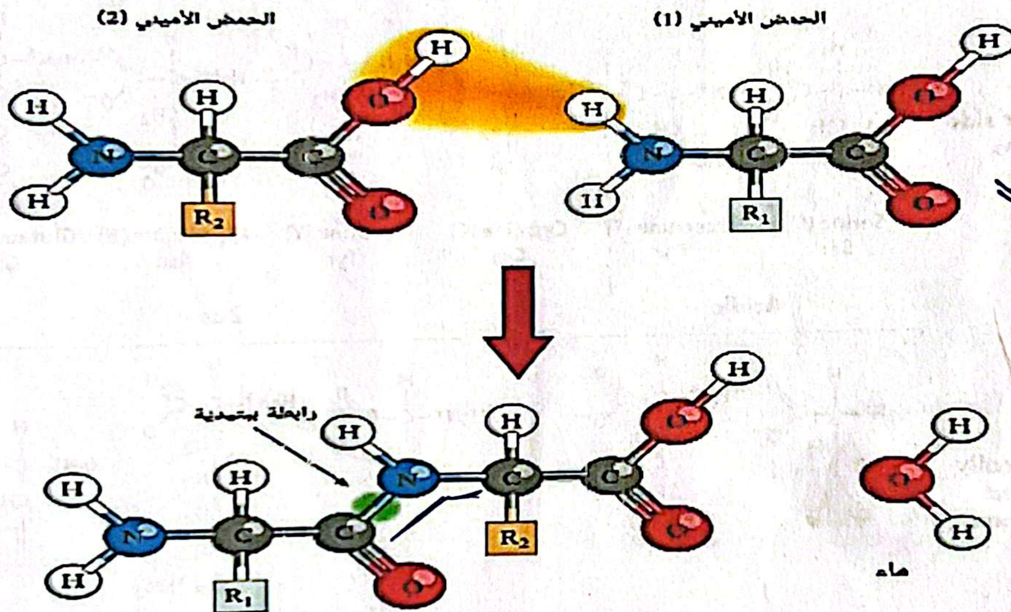
❖ الحموض الأمينية القطبية عديمة الشحنة: مثل السيرين.

❖ الحموض الأمينية القطبية ذات الشحنة الموجبة: مثل الأرجنين.

❖ الحموض الأمينية القطبية ذات الشحنة السالبة: مثل حمض الأسبارتيك.

ثانياً: البروتينات

البروتينات هي جزيئات ضخمة موجودة في كل الخلايا الحية، وهي عبارة عن متماثرات (بوليميرات) للحموض الأمينية. هي مركبات عضوية ذات وزن جزيئي مرتفع حيث تقوم بدور هام في إظهار النشاط الحيوي للخلايا والنسج وتوجد البروتينات في جميع الكائنات الحية أما الوظيفة البيولوجية للبروتينات فتتلخص بأنها تقوم بإنجاز نمو الخلايا – التكاثر – نقل الصفات الوراثية –الوساطة الأنزيمية – المضادات الجسدية – التقلص العضلي – وغيره من الوظائف في العضوية الحية.



تقسم البروتينات الموجودة في الطبيعة إلى نوعين:

- بروتينات بسيطة تعطي عند حلمهتها حموضا أمينية فقط مثال: ألبومين، كرياتين، كوولاجين.
- بروتينات معقدة تعطي عند حلمهتها حموضا أمينية ومركبات أخرى غير بروتينية مثال: الميوغلوبين، الرودوبسين



الجبلاتين

- هو مادة هلامية شبه صلبة وشفافة وفي بعض الأحيان تميل للون الأصفر عديمة الطعم والرائحة موجودة في الحيوانات والنباتات ينتج من تحطيم مادة الكولاجين في الانسجة والعظام. وهو يعد مصدرا غذائيا غنيا بالفيتامينات والمعادن مثل الفوسفور والنحاس والسيلينيوم يتكون الجيلاتين الحيواني من غلي عظام الحيوانات وجلد الخنزير.
- ويتكون النباتي من غلي بعض الطحالب البحرية.
- عند حلمهة الجيلاتين تنتج كمية كبيرة من الغليسين وكمية قليلة جدا من الحموض العطرية ولا يوجد حموض كبريتية.

صفاته الفيزيائية:

- قابلية للاستحلاب
- قابلية تكوين رغوة
- قابلية إعطاء اللزوجة والليونة

استخداماته

- في التصنيع الغذائي كصناعة الالبان والايس كريم كعامل مثبت
- وفي زبدة المارجرين وبعض السكاكر واللبان
- مصدر بروتيني هام في الصناعات الصيدلانية:
- في صناعة الكبسولات الطبية
- في تغليف الحبوب
- في صناعة الضمادات الجراحية وصناعة المواد الرغوية
- في صناعة المراهم الطبية.





الكازئين

هو البروتين الأساسي المستخرج من اللبن ويشكل العنصر الأساسي في الجبن ويحتوي على الكربون والهيدروجين والنتيروجين والاوكسجين والفوسفور والكبريت يحتوي على جميع الاحماض الامينية الاساسية التي يحتاجها الجسم من الطعام لعدم قدرته على تصنيعها بالإضافة لسهولة الهضم والامتصاص يمتلك صفات قلوية

فوائده:

1) •يساعد في تقوية العضلات ونموها
2) •يساهم في الحفاظ على مناعة الجسم
3) •قد يساهم في التقليل من الشحوم الثلاثية
4) •قد يساهم في التقليل من الجذور الحرة
5) •قد يساهم في خفض ضغط الدم
6) •قد يساهم في الحفاظ على صحة الاسنان

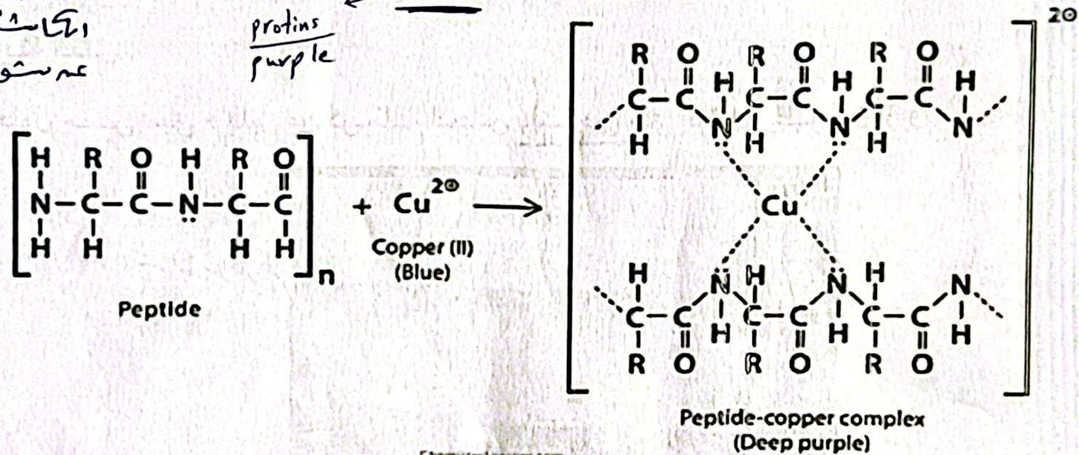
القسم العملي

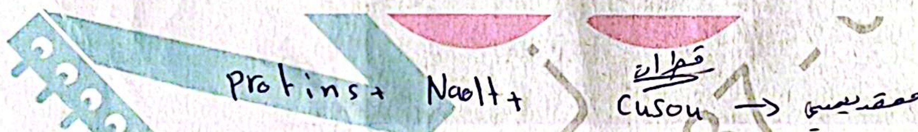
التمييز ما بين الحموض الأمينية والبروتينات.

تفاعلات الكشف عن البروتينات والأحماض الأمينية

تفاعل بايوريت (كشف الروابط الببتيدية): تفاعل لوني غير نوعي لا يحتاج تسخين

- هو تفاعل كبريتات النحاس في الأرساط القلوية بوجود الروابط الببتيدية فتعطي لون بنفسجي.





طريقة العمل:

نضع 2مل من محلول البروتين (الجيلاتين، الكازئين) ومحلول أحماض أمينية في أنابيب اختبار ثم نضيف عدة نقاط من ماءات الصوديوم 10% وخمس قطرات من محلول كبريتات النحاس ويمزج جيدا ويلاحظ تشكل اللون البنفسجي.

تحضير الكاشف غير مطلوب.

مادة صلبة خضراء اللون لا تنحل في الماء

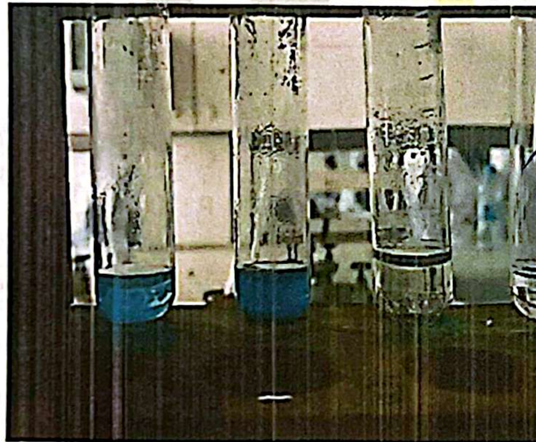
اختبار كربونات النحاس: غير نوعي

المبدأ:

يتفاعل ملح كربونات النحاس مع الأحماض **الأمينية الحرة** ليشكل معقدا ذو **لون أزرق غامق** إذ ترتبط الجذور الأمينية والكربوكسيلية مع شوارد النحاس. لا تعطي البروتينات والببتيدات نتيجة إيجابية مع كربونات النحاس لأن مجموعاتها غير حرة.

طريقة العمل:

محلول حمض أميني + قلبل من كربونات النحاس بالتسخين حتى الغليان يظهر لون أزرق.



لا يعطي نتيجة مع البروتين لأنه سيستئين

تفاعل كربونات النحاس، من اليمين لليسار: ماء، أرجينين، سيستئين

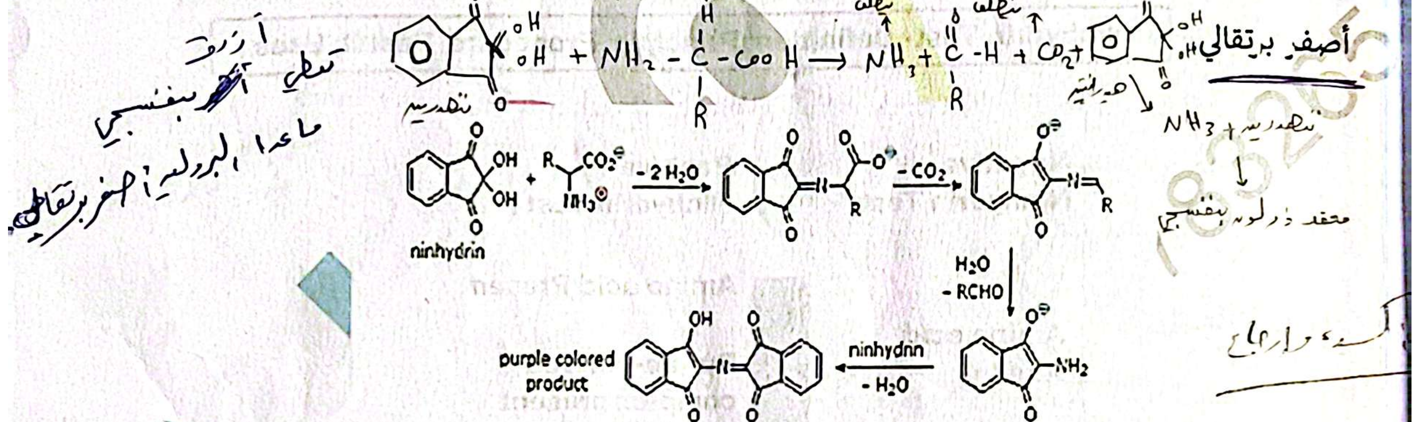
السؤال: علل لماذا كربونات النحاس تعطي تفاعل ايجابي مع الحموض الأمينية وسلبي لأن زمرة الكربوكسيل والأمين مرتبطة بالحموض المجاورة بروابط الحموض الأمينية تحتوي على زمرة واحدة.

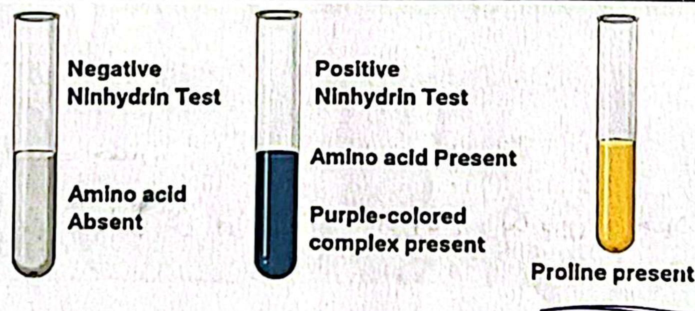
اختبار النينهيدرين: يحتاج تسخين عند نوعي الكاشف العام

المبدأ: أي مركب يحوي وظيفة أمينية.

النينهدرين هو مركب كيميائي **2,2-dihydroxyindane-1,3-dione** يستخدم لكشف المجموعة الأمينية الأولية والثانوية.

يقوم النينهدرين بتفكيك الحموض الأمينية إلى ألدهيد وأمونيا و ثاني أكسيد الكربون و من خلال سلسلة من التفاعلات، والنتيجة هي شكل مرجع جزيئا من النينهدرين يدعى الهيدريندانتين. بعد ذلك يحدث تفاعل تكثيف بين النينهدرين والأمونيا والهيدريندانتين ويتشكل صباغ ذو لون أزرق أو أرجواني؛ أما البرولين الذي يفتقد إلى مجموعة ألفا أمينو α amino فإنه يتفاعل مع النينهدرين لكنه في هذه الحالة يعطي ناتجا ذو لون أصفر برتقالي.





$CuSO_4$	$Cu(CO_3)_2$
الروابط الببتيدية	الحموض الأمينية الحرة
بنفسجي	لون أزرق غامق
لا يحتاج تسخين	يحتاج تسخين

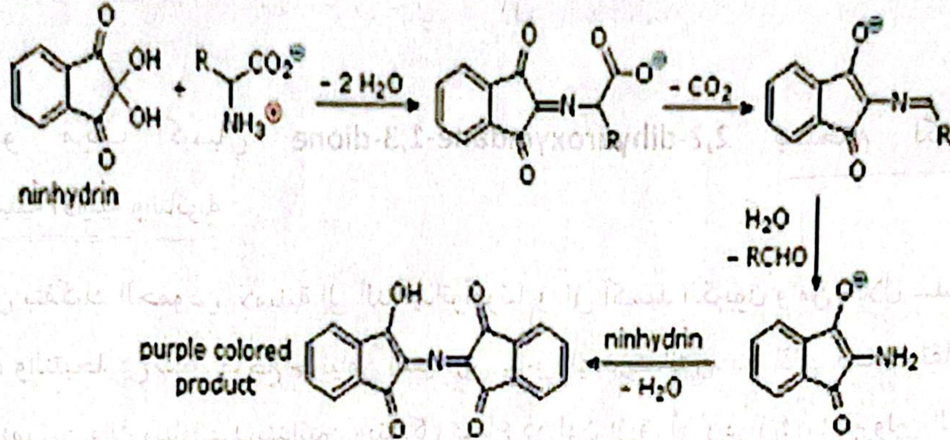
المواد:

محلول النينهيدرين 50ملغ/100مل : يضاف 50ملغ من النينهيدرين إلى 100مل من البوتانول

مبدأ التفاعل:

AA + نينهيدرين ← نينهيدرين + ألدهيد + NH_3 + CO_2 + النينهيدرين مرجع

نينهيدرين مرجع + نشادر + نينهيدرين مرجع ← أزرق بنفسجي



Ninhydrin Test- Definition, Principle, Procedure, Result, Uses







طريقة العمل:

نحتاج إلى 4 أنابيب اختبار:

1. أضف 2مل من محاليل كل من الألانين والبرولين والكازيئين والجيلاتين في أربعة أنابيب منفصلة.
2. أضف 1مل من كاشف النينهدرين.
3. امزج محتويات كل أنبوب وسخنه في حمام مائي في درجة الغليان لمدة 5دقائق.
4. برد الأنابيب وسجل ملاحظاتك واستنتاجاتك

Acree Rosenheim اكري روزنهيم

المبدأ:

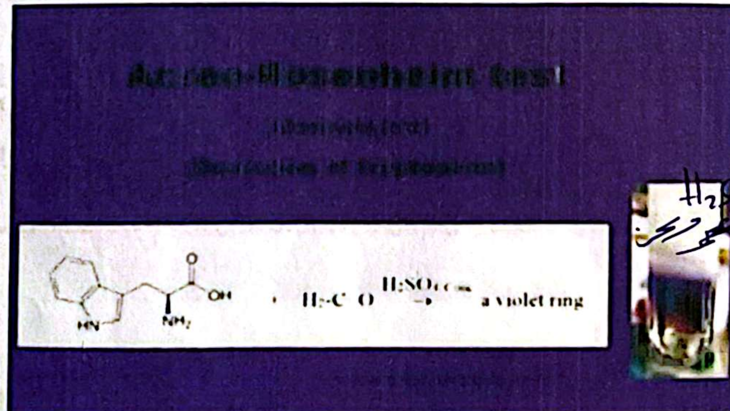
اكري روزنهيم هو اختبار يستخدم لكشف التريبتوفان. يخلط التربتوفان مع الفورم الدهيد. يضاف حمض الكبريت المركز ليشكل طبقتان. إن ظهور منطقة بنفسجية بين الطبقتين المتشكلتين تدل على وجود **التربتوفان** وأن النتيجة إيجابية.

المحاليل المطلوبة:

- حضر محالبل بنسبة 1%من الاحماض الامينية التربتوفان، التيروسين والفينيل ألانين
- محلول بروتين 5% من محلول البومين البيض والكازئين والجيلاتين في الماء المقطر
- فورم الدهيد
- حمض الكبريت المركز.

طريقة العمل:

1. ضع 1مل من كل حمض اميني في أنبوب اختبار
2. أضف إلى كل أنبوب 1مل من الفورم الدهيد
3. أضف 1مل من حمض الكبريت المركز على طرف أنبوب الاختبار
4. لاحظ تشكل اللون البنفسجي بين الطبقتين المتكونتين



الحاضرة الثالثة: ① الزانثوبروتيك ② ميلون ③ ساكاغوشي ④ هوبكنز

الجلسة الثالثة: الاختبارات النوعية للأحماض الأمينية

⑤ اختبار المجموعة العطرية Xantoproteic test (الزانثوبروتيك)

(HNO_3 ، $NaOH$)

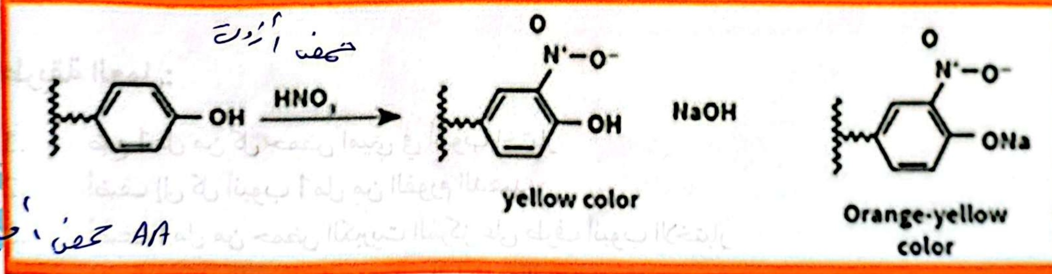
المبدأ:

تبدي الحموض الأمينية الحاوية على حلقة عطرية مثل: **التيروزين أوالتريبتوفان و الفينيل آلانين** أو البروتينات الحاوية على هذه الأحماض مشتقات نيتروزية صفراء عند التسخين مع حمض الآزوت الكثيف. ع وسط قلوي



Xanthoproteic test

(Detection of aromatic amino acids)



المواد:

- محاليل الحموض الأمينية بتركيز 50ميكروغرام لكل لترالتريبتوفان، التيروزين، الألانين.
- حمض الآزوت الكثيف.
- محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 10% (40 جرام من هيدروكسيد الصوديوم الى 100 مل ماء).

البرولين Pro: أميني ثانوي

مبدأ العمل:

① حمض أميني عطري + HNO_3 —Δ→ تتشكل حمض أميني عطري "أصفر"

② $NaOH$ + حمض أميني عطري → ملح صوديومي لمشتقات حمض أميني عطري "برتقالي"

اللهم لك الحمد حتى يبلغ الحمد منتهاه.

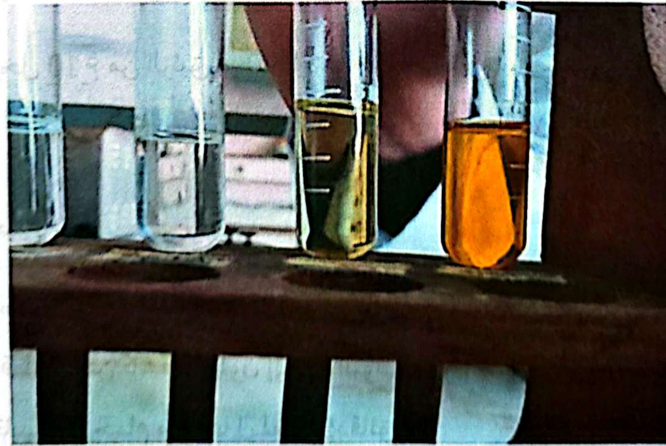
طريقة العمل: نحتاج إلى 3أنابيب

1. أضف 1مل من محاليل كل من التريبتوفان والتيروزين والألانين والبروتين المتوفر في ثلاثة أنابيب منفصلة.
2. أضف 0.5مل من حمض الآزوت المركز إلى كل أنبوب و سخن الأنابيب في حمام مائي بدرجة الغليان لمدة دقائق.
3. برد الأنابيب ثم أضف 3مل من هدروكسيد الصوديوم 10%ولاحظ تشكل لون أصفر برتقالي

Xanthoproteic Test- Definition, Principle, Procedure, Result, Uses







تفاعل كزانتوبروتيك، من اليمين لليسار: تربتوفان، تيروزين، سيستئين.





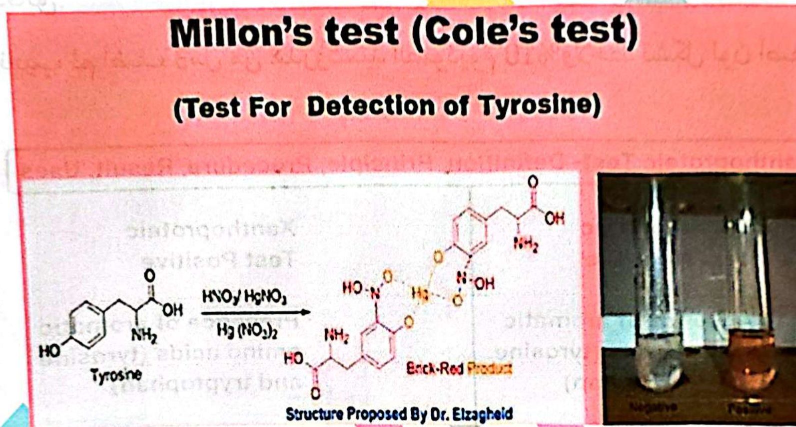
حيلون

اختبار مجموعة الفينيل هيدروكسيل Millon test

حيلون

المبدأ:

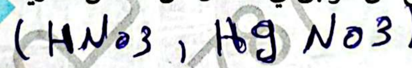
إن كافة البروتينات الحاوية على مجموعة الهيدروكسي فينوليك تعطي نتيجة إيجابية في اختبار ميلون، نتيجة لذلك فإن كل بروتين يحتوي على التيروزين يعطي نتيجة إيجابية تظهر بشكل لون زهري إلى أحمر غامق. يعُزى هذا اللون الأحمر لتشكل ملح زئبقي للتيروزين.



المواد:

1- محاليل الحموض الأمينية: **التريبتوفان، التيروزين.**

2- كاشف ميلون: يحل 10غ من الزئبق في 20مل من حمض النتريك، ويمدد إلى 100مل باستعمال الماء.



(HNO_3 , $HgNO_3$) كاشف خاص لـ Tyr

طريقة العمل:

نحتاج إلى أنبوبين اختبار:

1. أضف 1مل من محاليل كل من التريبتوفان والتيروزين في أنبوبين منفصلين.
2. أضف 3قطرات من كاشف ميلون إلى كل أنبوب وامزج جيدا.
3. اغمر الأنابيب في حمام مائي غالٍ لمدة 5دقائق.
4. برد الأنابيب.
5. يلاحظ تشكل لون أحمر مما يدل على وجود التيروزين.

مبدأ التفاعل:

حمض أميني عطري + HNO_3 ← مشتق نترو حمض أميني

مشتق نترو حمض التيروزين + $HgNO_3$ ← ملح زئبقي مشتق نترو حمض التيروزين (أحمر)

Millon's Test- Definition, Principle, Procedure, Result, Uses



Millon's Negative Test

Absence of tyrosine or phenol-containing compounds

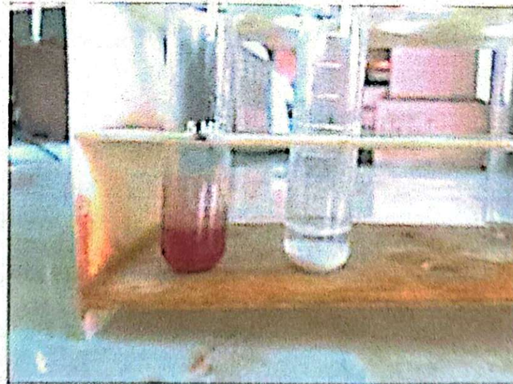
Red or pink colored precipitate absent



Millon's Positive Test

Presence of tyrosine or phenol-containing compounds

Red or pink colored precipitate present



تفاعل ميلون، من اليمين لليسار: أرجينين، تيروزين

سكاغوشي: [α نفتول + هيبوكلوريد الصوديوم] كاشف خاص لـ Arg

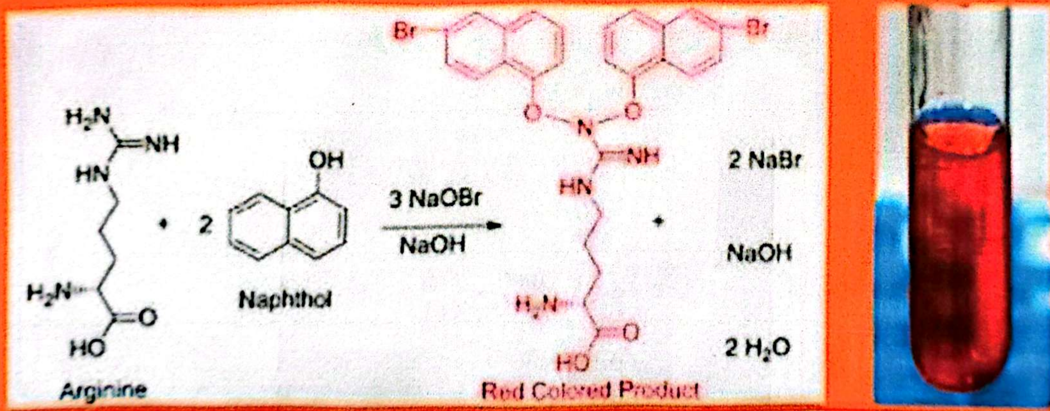
مبدأ التفاعل: Arg + α نفتول + هيبوكلوريد الصوديوم ⟵ معقد أحمر دموي




٧ اختبار Sakaguchi reaction ((سكاغوشي))

المبدأ: كاشف خاص لـ (Arg)

هو اختبار نوعي لوظيفة **الغوانيد في الأرجينين** وجميع المركبات الحاوية عليه التي تتفاعل مع الفا نافتول وعامل مؤكسد مثل ماء البروم أو هيبو كلوريت الصوديوم لإعطاء اللون الأحمر.



المواد:

- محاليل الحموض الأمينية: (الألانين، الآرجينين، التريبتوفان).
- محلول هيدروكسيد الصوديوم 40%:يحل 40 غ في الماء ويكمل الحجم إلى 100مل بالماء.
- الفا نافتول 1%في الكحول.
- ماء البروم: يضاف عدة قطرات من البروم إلى 100مل من الماء وي خض جيدا

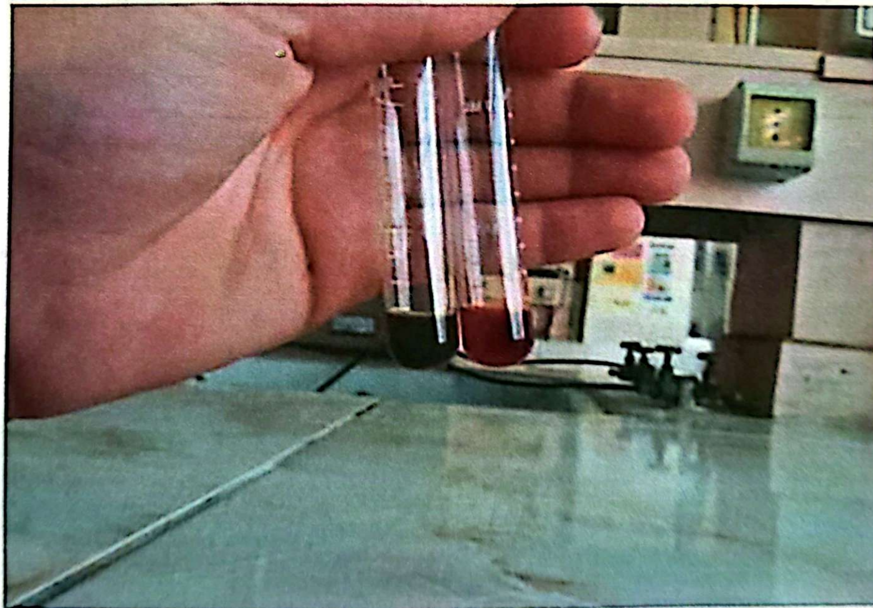
طريقة العمل: نحتاج إلى 3أنابيب

1- أضف 1مل من محاليل كل من الألانين والأرجينين والتريبتوفان والبروتين في أنابيب منفصلة..
2- أضف 0.5مل من محلول الفا نافتول و 1مل من ماء البروم إلى كل أنبوب ولاحظ اللون الأحمر المتشكل والذي يدل على وجود الآرجينين

العمل:

يمزج 1مل من هيدروكسيد الصوديوم مع 3مل من محلول الحمض الاميني ويضاف قطرتان من الفا نافتول.

يمزج ويضاف اليها 5قطرات من ماء البروم ويلاحظ تشكل لون أحمر يدل على وجود الآرجينين.



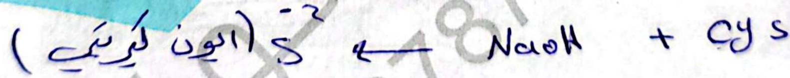
تفاعل ساكاغوتشي، من اليمين لليسار: أرجينين، سيستئين.

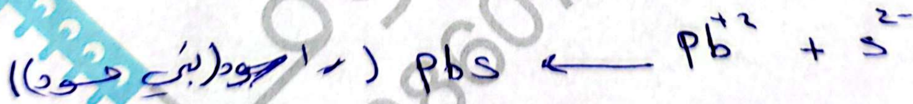
Amino Acids Detected	Name	Color
Tyrosin, tryptophan, alanine	Xantoproteic test	Yellow
Tyrosine	Millon test	Red
Cystein	Follin test	Black
Arginine	Sakaguchi test	Red
Tryptophan	Acree Rosenheim test	Purple

شادرة الرصاص/ خلات الرصاص

تفاعل فولن: (NaOH و Pb^{+2}) كاشف خاص للحموض الأمينية الكبريتية (met,

مبدأ التفاعل:





ترسيب البروتينات

هناك العديد من العوامل الفيزيائية والكيميائية التي تؤثر على ترسيب البروتينات مما يؤدي الى تغيير في بنية الجزيئات لهذه المركبات فيحدث تغيير في الشكل الفراغي وبشكل خاص البنية الثانوية والثالثية بينما لا تتعرض البنية الأولية لأي تغيير (لا يجري تفكيك الروابط الببتيدية). تقسم العوامل المؤدية إلى ترسيب وتخريب البروتينات إلى مجموعتين:

عوامل فيزيائية:

1. حرارة عالية
2. تأثيرات ميكانيكية
3. تأثير الإشعاعات النووية والأمواج فوق الصوتية.

عوامل كيميائية:

1. شوارد الأملاح الثقيلة
2. الحموض المعدنية والعضوية
3. أملاح الأمونيوم المعتدلة
4. أملاح المعادن القلوية
5. بعض المحلات العضوية



ترسيب البروتينات

هناك العديد من العوامل الفيزيائية والكيميائية التي تؤثر على ترسيب البروتينات مما يؤدي الى تغيير في بنية الجزيئات لهذه المركبات فيحدث تغيير في الشكل الفراغي وبشكل خاص البنية الثانوية والثالثية بينما لا تتعرض البنية الأولية لأي تغير (لا يجري تفكيك الروابط الببتيدية). تقسم العوامل المؤدية إلى ترسيب وتخريب البروتينات إلى مجموعتين:

عوامل فيزيائية:

1. حرارة عالية
2. تأثيرات ميكانيكية
3. تأثير الإشعاعات النووية والأمواج فوق الصوتية.

عوامل كيميائية:

1. شوارد الأملاح الثقيلة
2. الحموض المعدنية والعضوية
3. أملاح الأمونيوم المعتدلة
4. أملاح المعادن القلوية
5. بعض المحلات العضوية

تفاعلات الترسيب إما عكوسة أو غير عكوسة:

الترسيب العكوس:

- لا تتعرض الجزيئات البروتينية لتغيرات كبيرة وبالتالي فإن الراسب المتشكل يمكن أن ينحل بالماء مرة أخرى ويستعيد بنيته الفراغية النوعية والوظيفية.
- ترسيب البروتينات لأملاح المعادن القلوية والقلوية الترابية (تمليح البروتين).
- ترسيب البروتينات بواسطة المحلات العضوية (كحول، إيتر، أسيتون) طريقة العمل:

نأخذ 2 أنابيب اختبار ونضع فيها 2مل من المحلول البروتيني نضيف إلى الأنبوب الأول 2مل كبريتات الأمونيوم

وإلى الثاني كلور الصوديوم ونمزج بشكل جيد ثم نترك الأنابيب على الحامل فنلاحظ تشكل راسب أبيض على شكل عكر في الأنابيب الثلاثة من المحلول البروتيني.

الترسيب غير العكوس:

المبدأ:

يحدث تغييرات كبيرة على البيئة الفراغية للبروتينات مما يؤدي إلى تغييرات في خواص البروتين بعد الترسيب.

أ- الترسيب بواسطة الحموض العضوية (ثلاثي كلور حمض الخل) وبواسطة الحموض المعدنية (حمض الآزوت الكثيف)

المبدأ: تستطيع الأحماض العضوية ترسيب البروتينات نظرا لأن هذه الأحماض تحمل شحنات سالبة تستطيع معادلة البروتينات الموجبة وترسيب جزيئات البروتين، تختلف قوة الترسيب باختلاف قوة الحمض.



طريقة العمل:

يؤخذ أنبوب اختبار نضع فيه 2مل من حمض الآزوت الكثيف ونلاحظ تشكل حلقة بيضاء في الأنبوب عند السطح الفاصل بين السائلين.

ب- الترسيب بواسطة أملاح المعادن (خلات الرصاص وكبريتات النحاس):

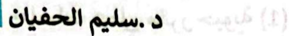
المبدأ: تقوم هذه الأملاح بإحداث تشوهات كبيرة في البنية الثانوية والثالثية لسلاسل البروتين وتفكيك الروابط وبالتالي تشكيل رواسب بروتينية غير عكوسة.

ج- الترسيب بواسطة التخريب الحراري

المبدأ: تتعرض معظم البروتينات للتخثر اعتبارا من درجات الحرارة0) إلى 50م5) فتؤدي الحرارة المرتفعة إلى تخريب البروتينات وتغييرات غير عكوسة على الخواص الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية وتتعلق سرعة ودرجة التخريب بدرجة pHالمحلول وبوجود مركبات متشردة فيه.

يتخثر الألبومين تخثيرا غير قابل للعودة بتأثير الحرارة (تفاعل فيزيائي غير عكوس) حيث يحدث تغيير كبير على البيئة الفراغية للجزيئات البروتينية مما يؤدي لتغييرات في خواص البروتين بعد التخثير.

طريقة العمل: نضع في أنبوب 2مل من المحلول البروتيني ونسخن في حمام مائي لدرجة الغليان لمدة 5دقاق نلاحظ ترسب البروتين ترسيبا غير عكوس



الجلسة الرابعة : الكيمياء السكريات الاحادية

السكريات

1- أهمية السكريات

السكريات هي واحدة من أهم أنواع الجزيئات الحيوية في الكائنات الحية. تلعب أدوارًا أساسية تشمل:

- **مصدر للطاقة** :تعتبر السكريات المصدر الأساسي والسريع للطاقة في الجسم، خاصة الجلوكوز.
- **مكونات هيكلية** :مثل السليلوز في النباتات والكيتين في الحشرات.
- **تخزين الطاقة** :يتم تخزين الطاقة على شكل سكريات معقدة مثل الجليكوجين في الحيوانات والنشا في النباتات.
- **أدوار في التواصل الخلوي** :تسهم السكريات في التفاعلات بين الخلايا والإشارات البيولوجية.

2- تصنيف السكريات

يمكن تصنيف السكريات إلى ثلاث مجموعات رئيسية:

- **السكريات الأحادية** :وهي أبسط أنواع السكريات، لا يمكن تحللها إلى جزيئات أبسط. مثل الجلوكوز والفركتوز.
- **السكريات الثنائية** :تتكون من وحدتين من السكريات الأحادية مرتبطة بروابط جليكوسيدية، مثل السكروز (جلوكوز + فركتوز) واللاكتوز (جلوكوز + جلاكتوز).
- **السكريات المتعددة** :جزيئات كبيرة تحتوي على العديد من وحدات السكريات الأحادية، مثل النشا والجليكوجين.

غلوكوز ← الوحيد
فركتوز ← لمثنون
غالاكتوز ← الوحيد
ريبوز ← الوحيد

السكر احادي ← مرجع
السكر ثنائي
① مرجع ← مالتوز، لاكتوز، سيللوز
② غير مرجعة ← السكروز، تريهالوز



السكريات الأحادية

تسمية وتصنيف السكريات الأحادية

السكريات الأحادية يمكن تصنيفها بناءً على:

- **عدد ذرات الكربون :**

ثلاثي الكربون (تريوز)،

رباعي الكربون (تتروز)

خماسي الكربون (بنتوز)

سداسي الكربون (هيكسوز).

- **نوع المجموعة الوظيفية:**
  - **ألدوز :**يحتوي على مجموعة ألدهيد (-CHO) مثل الجلوكوز.
  - **كيتوز :**يحتوي على مجموعة كيتون (C=O) مثل الفركتوز.

3- التماكب

- **التماكب الضوئي :**تتواجد السكريات الأحادية في صورتين متماكبتين، LوD ، بناءً على ترتيب المجموعات حول ذرة الكربون غير المتماثلة.
- **التماكب الحلقي :**عند ذوبان السكريات في الماء، يمكن أن يتكون هيكل حلقي داخلي يضم ذرة الأكسجين، وينشأ عن ذلك تماكب ألفا (α) وبيتا (β) .

4- الخواص الكيميائية للسكريات الأحادية

- **التفاعلات الأكسدة والاختزال :**تعمل السكريات الأحادية كعوامل مختزلة في العديد من التفاعلات الكيميائية.

- **تفاعلات الأسترة** :يمكن للسكريات الأحادية أن تخضع لتفاعل الأسترة مع الأحماض الفوسفورية أو الكبريتية.
- **تفاعل الأنهيدريد** :يمكن للسكريات أن تشكل أنهيدريدات عبر تفاعلات تكاثفية مع بعضها.

التفاعلات العامة للكشف عن السكريات:

1. **التفاعلات اللونية**
2. **التفاعلات الارجاعية**
3. **التفاعلات الترسيبية**

التفاعلات اللونية

1- تفاعل موليش (Molisch's Test) :

الوصف: تفاعل موليش هو اختبار نوعي يُستخدم للكشف العام عن وجود السكريات الأحادية أو الثنائية وحتى السكريات المتعددة. إنه اختبار سريع وسهل التنفيذ للكشف عن الجزيئات الكربوهيدراتية.

التطبيق: يُستخدم هذا الاختبار للكشف عن وجود أي نوع من السكريات (أحادية أو ثنائية أو متعددة) حيث تعطي جميعها نتيجة إيجابية.

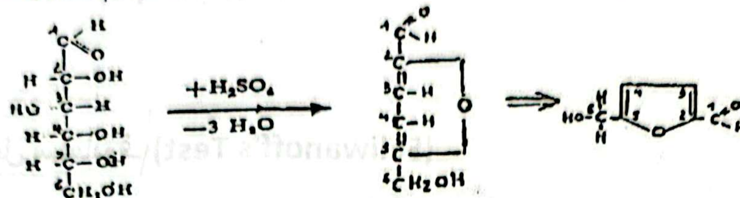
الآلية:

اختبار موليش هو اختبار عام لجميع الكربوهيدرات. في هذا الاختبار، تتفاعل الكربوهيدرات مع H_2SO_4 المركزة لتكوين الفورفورال ومشتقاته. عندما يتم معالجة أحادي السكاريد بـ H_2SO_4 المركز تتم إزالة مجموعة -OH من السكر في شكل ماء ويتكون الفورفورال من سكر البنتوز ويتكون هيدروكسي ميثيل الفورفورال من سكر الهكسوز. تتفاعل هذه المنتجات مع α-نفتول المسلفن لإعطاء معقد ملون أرجواني (أحمر بنفسجي).

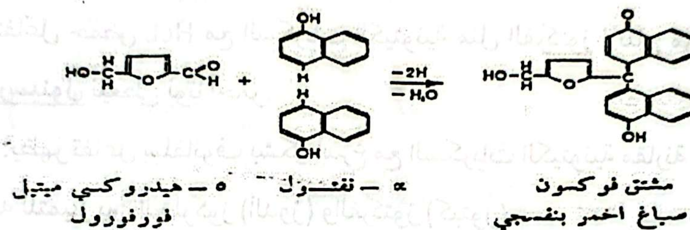
مبدأ التفاعل: (α نفتول + حمض الكبريت مركز) كاشف

السكر + حمض الكبريت ← مشتق الفورفورال

مشتق الفورفورال + α نفتول ← حلقة بنفسجية

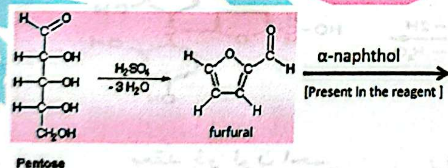


D – غلوكوز   5 – هيدروكسي ميثيل فورفورول



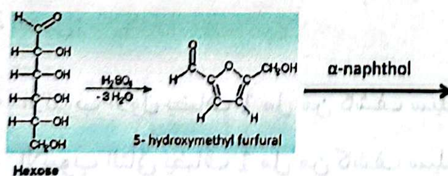
طريقة العمل:

يؤخذ في أنبوب جاف 2 مل من المحلول المراد فحصه ويضاف إليها عشر قطرات من ألفا-نفتول أو التيمول تمزج جيدا .ثم يضاف بحذر 2 مل (عملية إسالة على جدران الانبوب) من حمض الكبريت الكثيف بحيث تتشكل طبقة منفصلة، يلاحظ بعد دقائق تكون حلقة بنفسجية بين الطبقتين تدل على وجود أحد السكاكر.



Purple ring





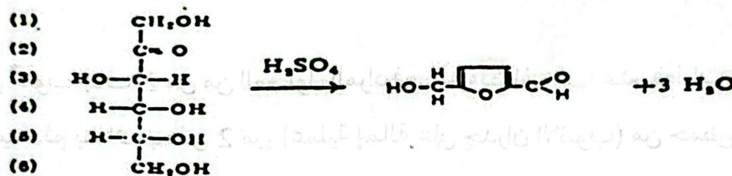
α-naphthol

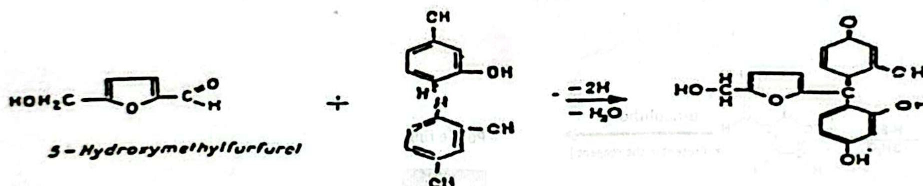
Purple ring



2- تفاعل سلفانوف (Seliwanoff's Test)

- **الغرض:** للتمييز بين الكيتوزات (فركتوز) والألدوزات (غلوكوز) من حيث سرعة ظهور الأحمر، فمع الكيتوزات يظهر اللون الأحمر بشكل اسرع من الألدوزات .
- **الآلية** :يتفاعل حمض HcL مع السكريات الكيتونية مثل الفركتوز لإنتاج مركب فورفورال يتفاعل مع الرزورسينول ليعطي لونًا أحمر.
- **التطبيق** :يظهر تفاعل سلفانوف بشكل أسرع مع السكريات الكيتونية مقارنة بالألدوزات، حيث يتم استخدامه للتمييز بين الجلوكوز (ألدوز) والفركتوز (كيتوز).





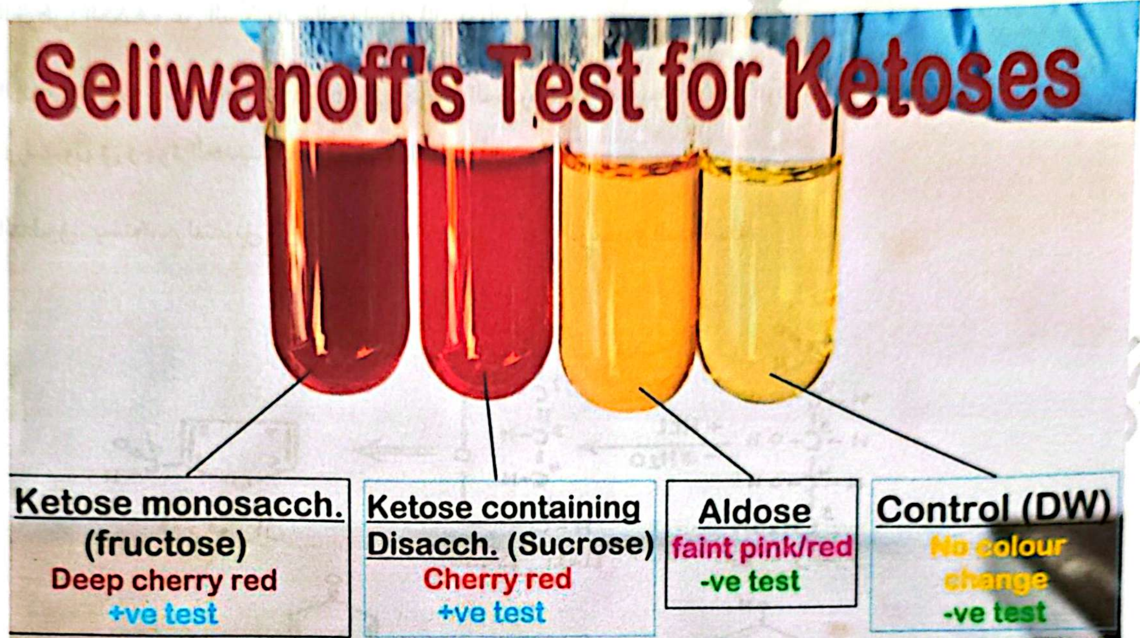
طريقة العمل:

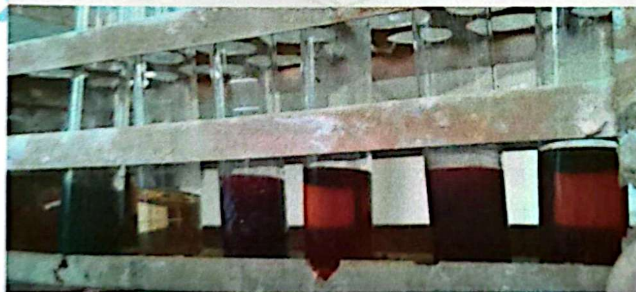
- ❖ الانبوب الاول يضاف 1 مل من كاشف سيلفانوف فى انبوب اختبار و يضاف اليه 0.5 مل من الفركتوز .
- ❖ الانبوب الثاني يضاف 1 مل من كاشف سيلفانوف فى انبوب اختبار و يضاف اليه 0.5 مل من الغلوكوز .

ثم التسخين في حمام مائي في درجه الغليان لمدة دقيقة .

مبدأ التفاعل: (ريزورسينول + Hcl)
سكر كيتوني + Hcl ← مشتق الفورفورال
مشتق الفورفورال + ريزورسينول ← لون احمر كرزي

بعد التبريد نلاحظ ظهور لون احمر كرزي مع الفركتوز بينما يتشكل لون احمر او برتقالي مع الغلوكو اوي اي سكر الدهيدي.





كاشف سيلفانوف:

0.05 gr من الرزورسينول + HcL(3N)

العمل:

1. يضاف 2 مل من كاشف سيلفانوف إلى أنبوب اختبار.
2. يضاف 1 مل من المحلول السكري، ويمزج جيداً.
3. يوضع الأنبوب في حمام مائي غالي لمدّة 5 دقائق.

النتيجة:

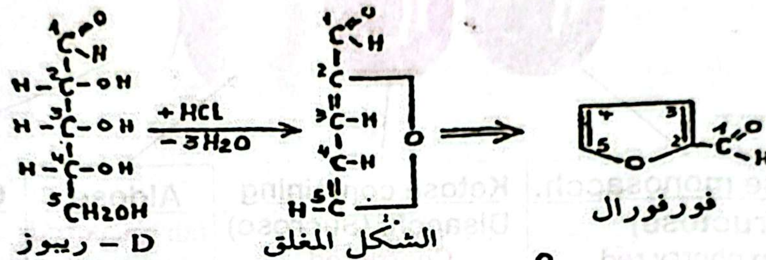
- 5 دقائق ← لون أحمر غامق (كرزي) ← السكر كيتوني.
- 10 دقائق ← لون وردي باهت ← السكر ألدهيدي.

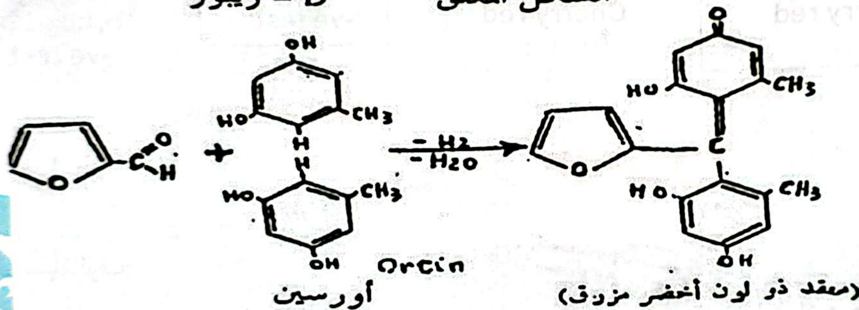
٣ تفاعل بيال(Bial's Test) :

الغرض: الكشف عن السكريات الخماسية (البنتوزات).

الآلية: يتفاعل حمض الهيدروكلوريك المركز مع السكريات الخماسية لتكوين مركبات فورفورال التي تتفاعل مع أورسينول في وجود الحديديك كلوريد لتعطي لونًا أخضر.

التطبيق: يستخدم للتفريق بين السكريات الخماسية مثل الريبوز و السداسية.





كاشف بيال:

تشمل المكونات 1.5 g الأورسينول و 10 مل حمض الهيدروكلوريك و20 قطرة من كلوريد الحديدي 10%.

طريقة العمل:

❖ الانبوب الاول يضاف 2 مل من كاشف بيال و يضاف اليه 0.5 مل من سكر بنتوزي .

❖ الانبوب الثاني يضاف 2 مل من كاشف بيال في انبوب اختبار و يضاف اليه 0.5 مل من سكر هكسوزي .

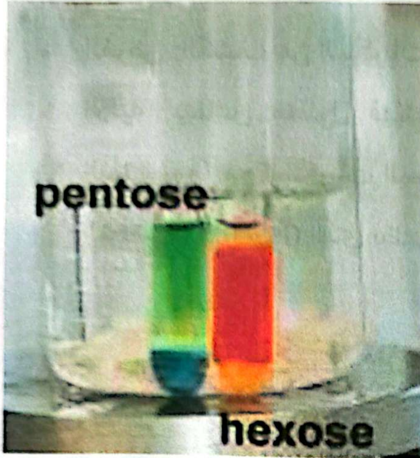
مبدأ التفاعل (FeCl3 + HCl + اورسينا)

ريبوز + HCl ← فورفورال

فورفورال + أورسينا + FeCl3 ← معقد ازرق خضر

ثم التسخسن في حمام مائي في درجه الغليان حتى ظهور اللون .حيث يتلون سكر البنتوز بلون اخضر مزرق اما السكريات السداسية تتلون بلون ازرق سندسي .





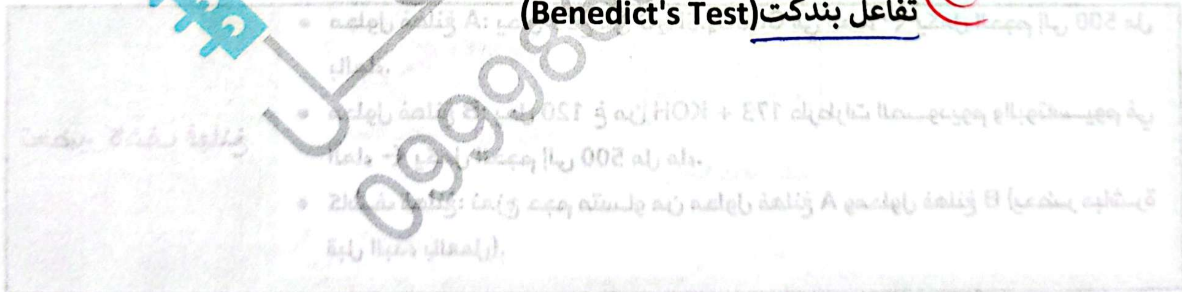
التفاعلات الإرجاعية:

تعتمد هذه التفاعلات على الخواص الإرجاعية للسكاريدات، فالسكاريدات ترجع هيدروكسيد النحاس إلى أكسيد النحاسي وترجع نترات الفضة إلى الفضة الحرة، ويلاحظ في الحالتين إرجاع المعدن وأكسدة السكر إلى الحمض السكريدي

1) اختبار تفاعل فهلنغ(Fehling's Test)

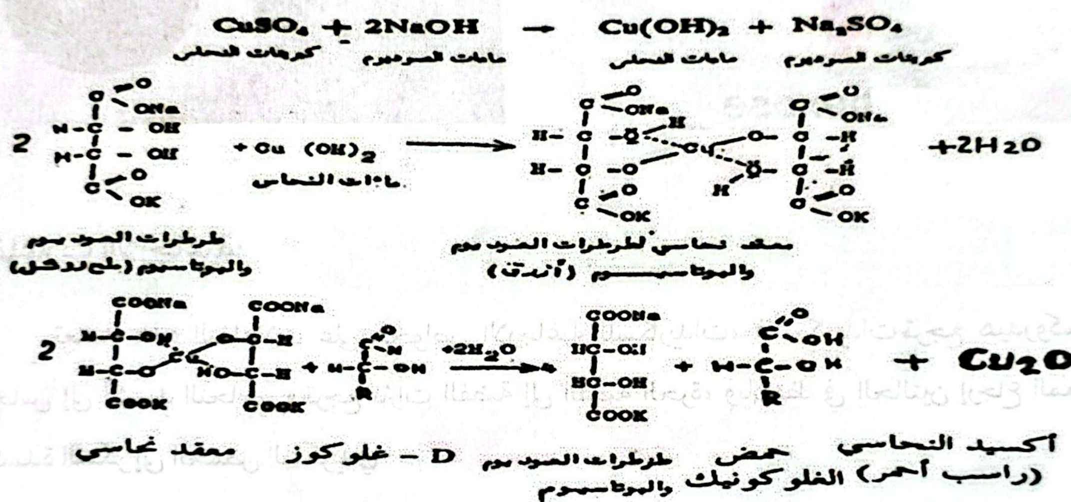
2) تفاعل بارفويد(Barfoed's Test)

3) تفاعل بندكت(Benedict's Test)



٤ اختبار تفاعل فهلنغ (Fehling's Test)

- **الغرض** :الكشف عن السكريات المرجعة (الألدوزات).
- **الآلية** :يتفاعل محلول فهلنغ (المكون من محلولين: كبريتات النحاس القاعدية طرطرات البوتاسيوم) مع السكريات المختزلة مثل الجلوكوز، مما يؤدي إلى اختزال النحاس (II) إلى أكسيد النحاس (I) Cu_2O الذي يظهر كراسب أحمر.



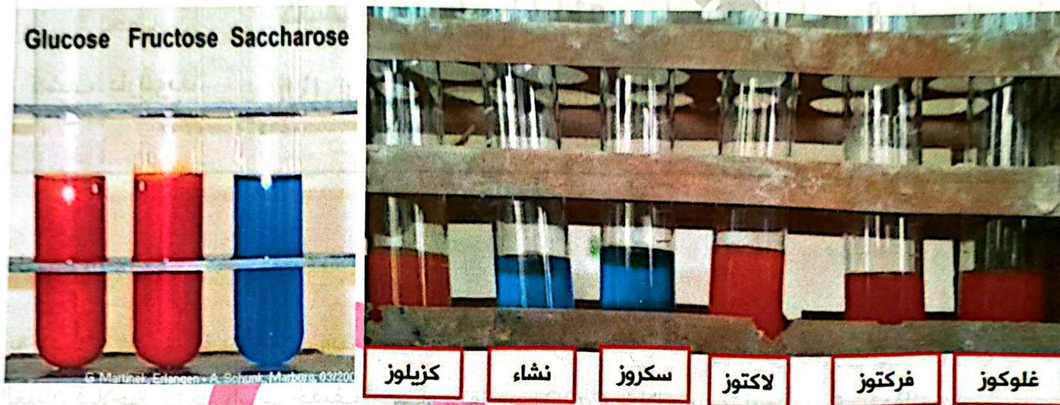
- **التطبيق** :يتم استخدامه للكشف عن الجلوكوز وغيره من السكريات الأحادية المختزلة.

تحضير كاشف فهلنغ	
	• محلول فهلنغ A: يحل 35 غ من $CuSO_4.5H_2O$ في الماء ← يكمل الحجم إلى 500 مل بالماء. • محلول فهلنغ B: يحل 120 غ من KOH + 173 طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم في الماء ← يكمل الحجم إلى 500 مل ماء. • كاشف فهلنغ: نمزج حجم متساو من محلول فهلنغ A ومحلول فهلنغ B (يحضر مباشرة قبل البدء بالعمل).

أ_ التفاعل (CuSO4 , NaOH)
_ مرجع + Cu^{+2} + 5OH ⟵ R-COO + Cu2O↓ + H2O
راسب احمر اجري

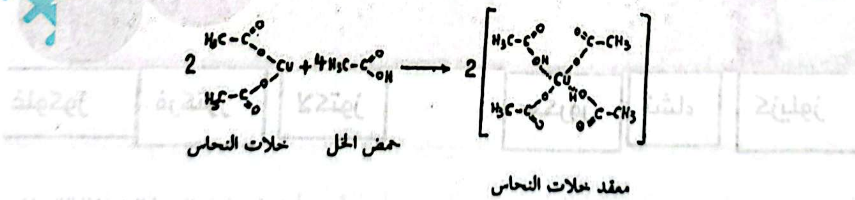
طريقة العمل:

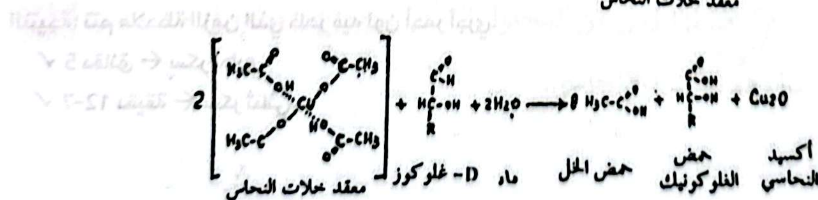
يؤخذ 2مل من المحلول سكري ويضاف 2مل من كاشف فهلنغ(A+B) يمزج ويوض الأنبوب في حمام مائي بدرجة الغليان لبضع دقائق فيظهر **راسب أحمر** في حال كان السكر يتمتع بخواص إرجاعية.



⑤ تفاعل بارفويد(Barfoed's Test)

- **الغرض** :التمييز بين السكريات الأحادية والسكريات الثنائية.
- **الآلية** :يعتمد على تفاعل الأسيتات النحاسية في وسط حمضي. تتفاعل السكريات الأحادية بسرعة لتعطي راسبًا من أكسيد النحاس(I) ، بينما تستغرق السكريات الثنائية وقتًا أطول للتفاعل.





مبدأ التفاعل (خلات النحاس + حمض الخل)

سكر مرجع + بارفوليد > t<4min سكر احادي مرجع (+) راسب احمر آجري

t>4min سكر ثنائي مرجع

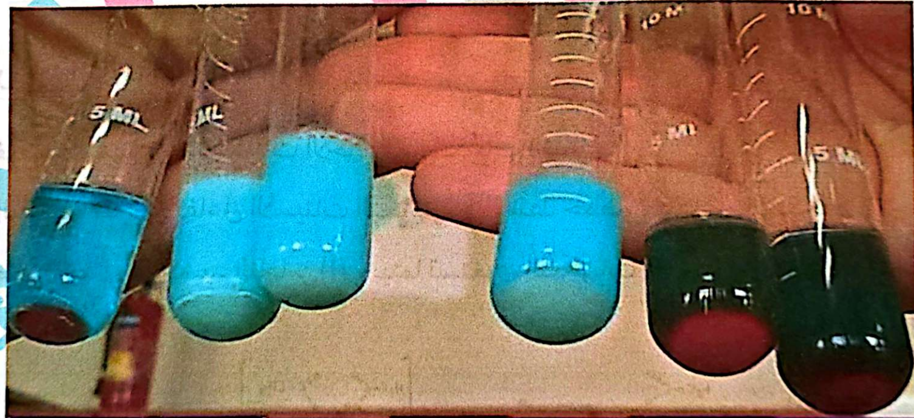
و سكر ثنائي G مرجع اللون ازرق

- **التطبيق** :يميز السكريات الأحادية عن السكريات الثنائية، حيث السكريات الأحادية تعطي نتيجة إيجابية أسرع.

تحضير كاشف بارفويد	**كاشف بارفود ← يحل13.3g من أسيتات النحاس و8 مل من حمض الخل الثلجي ويكمل الحجم إلى 200 مل بواسطة الماء.**

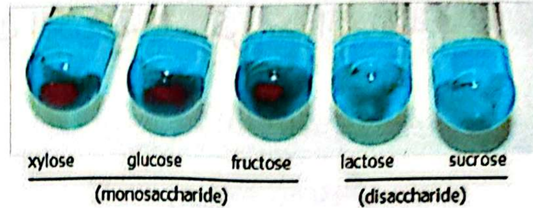
طريقة العمل:

يؤخذ 5مل من كاشف بارفوئيد ويضاف إليها 10نقاط من المحلول السكري يمزج ويوضع في حمام مائي في درجة الغليان فيلاحظ تشكل راسب خفيف أحمر أو برتقالي منCu_2O خلال زمن يتراوح بين 5 - 1دقائق.



النتيجة: تتم ملاحظة الزمن الذي ظهر فيه لون أحمر آجري.

- ✓ 5 دقائق ← سكر أحادي.
- ✓ 12-7 دقيقة ← سكر ثنائي.





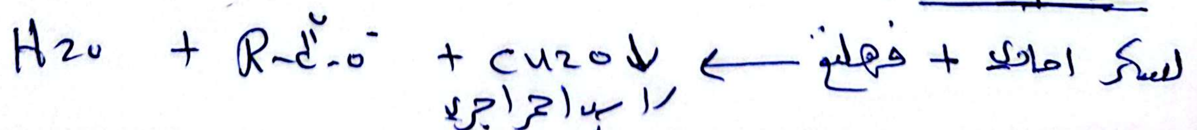
Barfoed's test
(test for
monosaccharides)

٦ تفاعل بندكت(Benedict's Test)

- **الغرض** :الكشف عن السكريات المختزلة (الألدوزات والكيتوزات).
- **الآلية** :مشابه لتفاعل فهلنغ، حيث يتفاعل محلول بندكت مع السكريات المختزلة ليعطي راسبًا أحمر أو برتقالي بسبب تكوين أكسيد النحاس.(I)
- **التطبيق** :يُستخدم للكشف عن السكريات الأحادية مثل الجلوكوز والفركتوز، وكذلك بعض السكريات الثنائية المختزلة مثل المالتوز.
- هو تفاعل أشد حساسية من تفاعل فهلنغ ويعتمد على نفس المبدأ (ارجاع شوارد النحاس الى نحاسي) بواسطة ال زمرة الألدهيدية/ الكيتوزية الحرة للسكريد حيث يتشكل راسب ذو لون أحمر من أكسيد النحاسي، وبدلاً من استخدام ملح روشل في اختبار فهلنغ يستخدم في اختبار بنديكت سترات الصوديوم لتشكل شوارد النحاس معقداً صوديومياً لسترات النحاس الذي يمنع ترسب ماءات النحاس.

طريقة العمل :

نأخذ 5مل من محلول بندكت (سترات الصوديوم مع كربونات الصوديوم مذابة في الماء المقطر ويضاف له كبريتات النحاس) ويضاف لها 1مل من المحلول السكري ويمزج ويوضع في حمام مائي يغلي لبضع قائق فيبدو راسبا أحمراً وهو أوكسيد النحاسي.



الجلسة الخامسة : الاختبارات الكيفية للسكريات الثنائيّة

السكريات الثنائية(Disaccharides)

السكريات الثنائية هي نوع من الكربوهيدرات التي تتكون من ارتباط وحدتين من السكريات الأحادية (monosaccharides)بواسطة رابطة جليكوسيدية.

تعد هذه السكريات مركبات بسيطة مقارنة بالسكريات المتعددة ولكنها أكثر تعقيدًا من السكريات الأحادية.

أهم الخصائص:

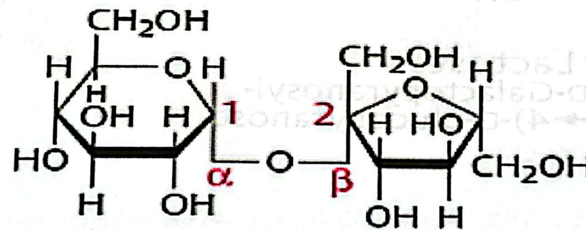
1. **البنية** :تتكون السكريات الثنائية من وحدتين من السكريات الأحادية المرتبطة ببعضها بروابط جليكوسيدية.
2. **القابلية للتحلل** :يمكن تحلل السكريات الثنائية إلى مكوناتها الأساسية من السكريات الأحادية بواسطة الإنزيمات في الجهاز الهضمي.
3. **القابلية للذوبان في الماء** :السكريات الثنائية تذوب بسهولة في الماء وتعطي طعمًا حلوًا.
4. **الخواص الارجاعية** : تتوقف الخواص الإرجاعية للسكريات الثنائية على وجود زمرة كربونيلية (العامل المرجع) في جزيئة السكريد الثنائي ففي حالة الرابطة **غليكوزيد – غليكوزيد** يفقد السكريد الثنائي خواصه الإرجاعية كما هو الحال في **السكروز**.

أما في حالة وجود الرابطة غليكوزيد – غلوكوز فيكون السكريد مرجعاً كما هو الحال في سكريد اللاكتوز والمالتوز.

أمثلة على السكريات الثنائية:

1. السكروز:(Sucrose)

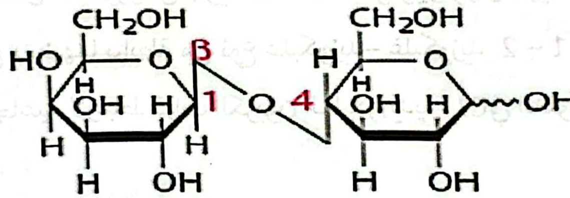
- يتكون من جلوكوز + فركتوز.
- يعرف أيضًا بـ "سكر المائدة"، وهو النوع الشائع من السكر المستخدم في الأطعمة والمشروبات.
- يوجد بكثرة في قصب السكر.
- لا يعتبر سكرًا مرجعا (لا يختزل المحاليل النحاسية مثل فهلنغ أو بندكت).
- يتشكل السكروز من جزيئة α – D –غلوكوبيرانوز و جزيئة β – D – فركتوفورانوز مرتبطتين مع بعضهما برابطة من نوع غليكوزيد– غليكوزيد 2 – 1 لذلك لا يتمتع السكروز بخواص إرجاعية لارتباط ذرات الكربون الغليكوزيدية (C1في الغلوكوز و C2في الفركتوز).



3. Sucrose
α-D-Glucopyranosyl-
(1↔2)-β-D-fructofuranoside

2. اللاكتوز:(Lactose)

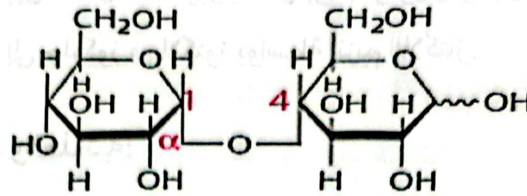
- يتكون من جلوكوز + جلاكتوز.
- يوجد في الحليب ومنتجاته ويعتبر سكر الحليب الرئيسي.
- يتحلل بواسطة إنزيم اللاكتاز في الأمعاء الدقيقة. يعاني بعض الأشخاص من عدم تحمل اللاكتوز بسبب نقص إنزيم اللاكتاز.
- يتألف اللاكتوز من – α – Dغلوكوبيرانوز وجزيئة – β – Dغالاكتوبيرانوز مرتبطتين مع بعضهما برابطة من نوع غليكوزيد – غلوكوز C4 -C1 لذلك فهو يتمتع بخواص إرجاعية.



2. Lactose
β-D-Galactopyranosyl-(1→4)-D-glucopyranose

3. المالتوز:(Maltose)

- يتكون من جلوكوز + جلوكوز.
- يعرف أيضًا بـ "سكر الشعير"، ويُنتج عند تحلل النشا بواسطة إنزيم الأميليز.
- يوجد في الشعير والحبوب المُنبتة.
- يعتبر سكرًا مرجعا (يختزل المحاليل النحاسية).
- يتألف المالتوز من جزيئتين – α – Dغلوكوبيرانوز مرتبطتين ببعضهما برابطة من النوع غليكوزيد – غلوكوز وبالتحديد بين C4 -C1 لذلك فهو يتمتع بخواص إرجاعية.



1. Maltose
α-D-Glucopyranosyl-
(1→4)-D-glucopyranose

الروابط الجليكوسيدية:

- السكريات الثنائية ترتبط عبر روابط جليكوسيدية. في السكروز، على سبيل المثال، يتم الربط بين ذرة الكربون 1 في الجلوكوز وذرة الكربون 2 في الفركتوز.
- يمكن أن تكون الرابطة الجليكوسيدية من نوع ألفا (α) أو بيتا (β) اعتمادًا على الوضع الفراغي للمجموعة الهيدروكسيلية(OH)

الخواص الكيميائية للسكريات الثنائية:

1. قابلية الاختزال(الارجاع) :

- بعض السكريات الثنائية تعتبر سكريات مرجعة، مما يعني أنها تحتوي على مجموعة ألدهيد أو كيتون حرة تمكنها من ارجاع المحاليل النحاسية مثل محلول فهلنغ أو بندكت. مثال على ذلك: المالتوز واللاكتوز.
- أما السكروز، فهو لا يحتوي على مجموعة ألدهيد أو كيتون حرة، ولذلك لا يُظهر خواص مرجعة .

2. التحلل المائي:

- السكريات الثنائية يمكن أن تتحلل مائيًا إلى وحداتها الأحادية بواسطة إنزيمات خاصة أو من خلال التفاعل مع الأحماض المخففة.




- على سبيل المثال، السكروز يتحلل إلى جلوكوز وفركتوز بواسطة إنزيم السكراز، واللاكتوز يتحلل إلى جلوكوز وجلاكتوز بواسطة إنزيم اللاكتاز.

الأهمية البيولوجية والغذائية:

- **السكروز** :مصدر رئيسي للطاقة في النظام الغذائي اليومي للإنسان.
- **اللاكتوز** :يعتبر مصدرًا هامًا للطاقة للأطفال الرضع، وخاصة من خلال الرضاعة الطبيعية.
- **المالتوز** :يوجد في الأطعمة التي تحتوي على نشويات مُحللة، ويستخدم في العديد من التطبيقات الغذائية كمُحلي.

التفاعلات الكيفية:

- تقوم السكاكر الثنائية جميعها بتفاعلات الكشف العامة عن السكاكر (موليش، سلفانوف، بيال) وفق نفس مبادئ التفاعلات المذكورة في الجلسة السابقة معطية معقدات ذات ألوان (بنفسجي، أحمر، أخضر مزرق) على التوالي، ووفق طرق العمل المذكورة سابقاً.

- تقوم السكاكر الثنائية **المرجعة** فقط بتفاعلات الإرجاعية المذكورة في الجلسة السابقة **(فهلنغ، بارفوئيد، بندكت)** مرجعة النحاس إلى راسب أوكسيد النحاسي ذي اللون الأحمر الآجري؛
- **بينما لا تستطيع السكاكر الثنائية غير المرجعة كالسكروز لقيام بالتفاعلات الإرجاعية إلا بعد تكسير الروابط غليكوزيد- غليكوزيد بحيث نحصل على سكريين أحاديين مرجعين قادرين على ارجاع النحاس إلى أوكسيد النحاسي.**
- يمكن تكسير الروابط بواسطة الحلمهة إما الحمضية أو الأنزيمية

الحلمهة الحمضية للسكروز Acid Hydrolysis of Sucrose

يعتبر السكروز من السكريدات الثنائية غير المرجعة، فهو لايحتوي على هيدروكسيل غلوكوزيدي حر فإذا سخن بوجود حمض معدني ممدد فإن جزيئيه تتفكك وبالتالي يتحرر كل من الغلوكوز والفركتوز وكلاهما مرجع.

الكواشف اللازمة:

1-محلول HCL 10%.

2- محلول فهلنغ

3- هدروكسيد الصوديوم

طريقة العمل :

يؤخذ 2مل من محلول السكروز ويضاف له 2مل من كاشف فهلنغ ويغلي في حمام مائي لمدة ثلاثة دقائق فيلاحظ عدم تشكل أي راسب (تجربة الشاهد).

- يؤخذ في أنبوب آخر 5 مل من المحلول ويضاف إليها 0.5 مل من محلول حمض كلور الماء الممدد ويسخن في حمام مائي لمدة 15دقيقة ويبرد ويضاف إليه 0.5 مل من محلول ماءات الصوديوم (هدروكسيد الصوديوم) لتعديل الحمض نستخدم ورقة عباد الشمس.

يؤخذ جزء من المزيج ويضاف 2مل من كاشف فهلنغ ويعاد إلى الحمام المائي يلاحظ ظهور راسب أحمر من أوكسيد النحاسي.

الحلمهة الأنزيمية للسكروز:

يقوم أنزيمSucrase الموجود في خميرة العجين بتسريع تفكيك الرابطة الغليكوزيدية لجزيئة السكروز وتحرير وحداته الأساسية (غلوكوز وفركتوز).

الكواشف اللازمة:

1- محلول خميرة العجين
2- كاشف فهلنغ.

طريقة العمل:

يؤخذ 2مل من محلول السكروز ويضاف إليه 2مل من محلول خميرة العجين ويترك في درجة حرارة الغرفة 5-8 دقائق ثم نجري على الأنبوب اختبار فهلنغ فيعطي نتيجة إيجابية.

الجلسة السادسة : الاختبارات الكيفية للسكريات المتعددة

السكريدات المتعددةPolysaccharides:

هي عبارة عن مركبات سكريدية ذات وزن جزيئي كبير يتكون الجزيء الواحد منها من عدد كبير من جزيئات السكريدات الأحادية (أكثر من عشرة جزيئات) وتكون هذه السكريدات مرتبطة مع بعضها بروابط غليكوزيدية ناتجة عن نزع جزيئة ماء من زمرتي الهيدروكسيل لسكريدين متجاورين إحداهما غليكوزيدية دائماً بحيث يتكون جسر أوكسجيني يربط السكريدات الأحادية على شكل سلسلة.

خواص السكريدات المتعددة:

- لا تنحل في الماء بل تشكل محاليل غروية معه.
- ليس لها طعم حلو.
- ولا تتمتع بخواص إرجاعية وذلك لكبر حجمها الجزيئي وانشغال الزمر الهيدروكسيلية الوظيفية في تشكيل الروابط الغلوكوزيدية ما بين الجذور الأحادية.

تتفكك هذه الروابط بتأثير الماء بوجود الحموض المعدنية الممددة أو بتأثير الانزيمات الخاصة بها معطية السكريدات الأحادية المكونة لها.

نميز زمرتين من السكاكر المتعددة:

1-سكريدات متعددة غير متجانسة تتألف من جزيئات سكريدات مختلفة (ويمكن ان تحتوي على عناصر إضافية كالكبريت والأزوت و .... ؛ وهناك الكثير من السكريات في النسج والسوائل الحية تكون مرتبطة مع مركبات أخرى مثل الحموض الامينية والبروتينات وبعض المواد الدسمة.

2- سكريدات متعددة متجانسة تتألف من نوع واحد من جزيئات السكريد الأحادي؛ ومن أمثلتها نذكر منها :

النشاء

- يشكل المادة الاحتياطية الرئيسية من السكاكر عند مملكة النبات الراقي حيث يتكون من نواتج التركيب الضوئي ويوجد على شكل حبيبات ذات حجوم وأبعاد وأشكال مختلفة من نبات إلى آخر وذلك في الخلايا النباتية.
- عادة ما تتكون هذه الحبيبات من نوعين من المركبات هما الأميلوز بنسبة حوالي(20 – 30 %) الأميلوبكتين % 70 – 80 .

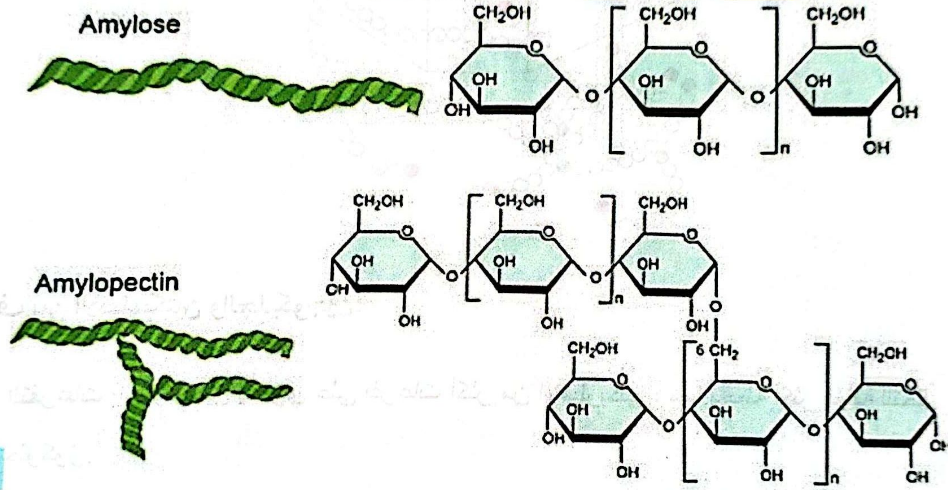
- يتفكك النشاء بتأثير الحموض الممددة أو بتأثير أنزيم Amylaseمعطيا الديكسترينات Dextrinesوالمالتوز .ولا يملك النشاء خواص إرجاعية بينما تمتلك الديكسترينات خواص إرجاعية.

الأميلوز (Amylose) :

- **البنية** :الأميلوز هو سلسلة خطية غير متفرعة من وحدات الجلوكوز مرتبطة ببعضها عبر روابط α-1,4-جليكوسيدية.
- **الخصائص:**
  - يشكل الأميلوز حوالي 20-30% من بنية النشا.
  - قابلية الذوبان في الماء ضعيفة نسبيًا بسبب طبيعته الخطية.
  - يكون في المحاليل بشكل هيليكي (حلزوني)، مما يساعده على التفاعل مع اليود لتكوين لون أزرق مميز.

الأميلوبكتين(Amylopectin)

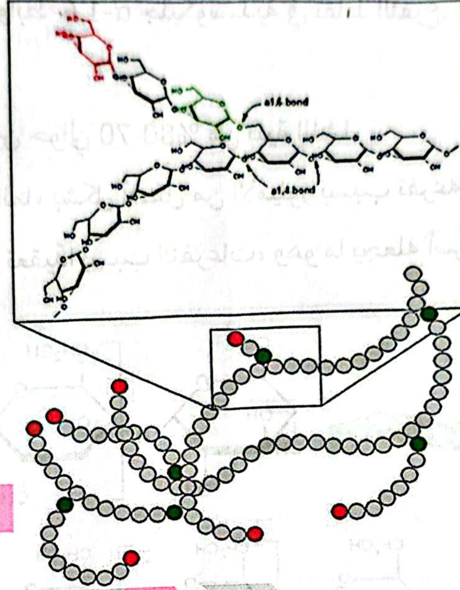
- **البنية** :الأميلوبكتين هو بوليمر متفرع يتكون من سلاسل جلوكوز مرتبطة بروابط-α-1,4 جليكوسيدية في السلاسل الأساسية، مع روابط-α-1,6 جليكوسيدية في نقاط التفرع.
- **الخصائص:**
  - يشكل الأميلوبكتين حوالي 70-80% من بنية النشا.
  - قابل للذوبان في الماء بشكل أفضل من الأميلوز بسبب تفرعه.
  - يكون هيكله أكثر تعقيدًا بسبب التفرعات، وهو ما يجعله أسرع في الهضم.



الجليكوجين(Glycogen)

- **البنية** :الجليكوجين يشبه الأميلوبكتين من حيث أنه متفرع، ولكنه يحتوي على تفرعات أكثر كثافة. يتكون الجليكوجين من وحدات الجلوكوز المرتبطة بروابط-α-1,4 جليكوسيدية مع روابط-α-1,6 جليكوسيدية في نقاط التفرع.
- **الخصائص:**
  - يعد الجليكوجين الشكل الرئيسي لتخزين الجلوكوز في الحيوانات، ويوجد بشكل رئيسي في الكبد والعضلات.
  - كثافة التفرعات العالية تساعد في سهولة وسرعة تكسير الجليكوجين عند الحاجة إلى الطاقة.

- عند الحاجة إلى الطاقة، يتم تكسير الجليكوجين إلى الجلوكوز بواسطة عملية التحلل الجليكوجيني(glycogenolysis) .



الاختلاف بين الأميلوبكتين والجليكوجين:

- **التفرعات** :الجليكوجين يحتوي على تفرعات أكثر من الأميلوبكتين، مما يجعله أكثر قابلية للتحلل إلى جلوكوز.
- **الموقع** :الجليكوجين هو بوليمر تخزين الطاقة في الحيوانات، بينما النشا (الأميلوز والأميلوبكتين) هو بوليمر تخزين الطاقة في النباتات.

التفاعلات الكيفية للكشف عن السكاكر المتعددة:

❖ تقوم السكاكر المتعددة جميعها بتفاعلات الكشف العامة عن السكاكر (موليش، سلفانوف، بيال) وفق نفس مبادئ التفاعلات المذكورة في الجلسة السابقة معطية معقدات ذات ألوان (بنفسجي، أحمر، أخضر مزرق) على التوالي، ووفق طرق العمل المذكورة سابقاً.

- لا تستطيع السكاكر المتعددة القيام بتفاعلات الإرجاعية المذكورة في الجلسة السابقة (فهلنغ، بارفوئيد، بندكت) وفق طرق العمل المذكورة سابقاً وذلك لانشغال الهدروكسيل الغلكوزيدي بتشكيل الروابط الغليكوزيدية في المركب.
- في حال حلمهة النشاء أو السكاكر المتعددة بحيث نحصل على سكاكر أحادية تملك صفات إرجاعية بفضل الزمر الوظيفية الحرة فيها، فتكون عندها قادرة على ارجاع النحاس إلى أوكسيد النحاسي وبذلك تعطي مع كواشف (بندكت، فهلنغ، باروئيد) راسب أحمر آجري.

يمكن تكسير الروابط بواسطة الحلمهة إما الحمضية أو الأنزيمية (بواسطة إنزيم الأميلاز).

القسم العملي:

تفاعل موليش:

- **طريقة العمل:**

1مل من النشاء مع 10نقط من الفا النفتول يضاف اليها 2مل من حمض الكبريت الكثيف على جدران الانبوب فتظهر حلقة بنفسجية.

- **الكشف عن الخواص الإرجاعية:**

الكواشف اللازمة: حمض كلور الماء المركز، كاشف فهلنغ أو بندكت.

طريقة العمل:

يؤخذ أنبوبين نضع فيهما 5مل من محلول النشاء أحدهما شاهد أما الثاني فيضاف له 3قطرات من حمض الكلور المركز، يسخن كلا الأنبوبين في حمام مائي لمدة 10-15 دقيقة.

يُرفع الأنبوبان وتعدل حموضة الثاني بإضافة هدروكسيد الصوديوم بوجود عباد الشمس كمشعر ثم نجري تفاعل فهلنغ على كلا الأنبوبين.

يلاحظ ظهور راسب أحمر اللون في الأنبوب الثاني (حصل تفاعل حلمهة للنشاء نتيجة إضافة HCL وعدم ظهوره في الأول مما يدل على أن النشاء لا يتمتع بخواص إرجاعية.

ترسيب النشاء بواسطة أملاح الأمونيوم الرباعية:

طريقة العمل:

نضع في أنبوب الاختبار حجما معينا من محلول النشاء ثم نضيف له نفس الحجم من محلول من كبريتات الأمونيوم المشبعة ثم يرج الأنبوب جيدا.

▪**نلاحظ:** راسبا أبيضا كثيفا.

▪**التفسير:** ألفة الكبريتات للماء أعلى من النشاء مما يؤدي لجذب الماء المحيط بجزيئات النشاء وترسب النشاء في أسفل الأنبوب.

تفاعل اليود:

هو تفاعل خاص بالنشاء والديكسترينات ويعطي نتيجة سلبية مع السكريدات الأحادية والثنائية لذا فالتفاعل يحدد إذا كان المحلول يحوي نشاء أم لا؛ أما المبدأ الذي يقوم عليه التفاعل فهو أن اليود يشكل مع سلاسل جزيئة النشاء(بشكل أدق مع سلاسل جزيئة الأميلوز) معقدات ذات لون أزرق بنفسجي يزول عند التسخين ويعود بالتبريد.

طريقة العمل:

يوضع في أنبوب 3مل من محلول النشاء ويضاف قطرة واحدة من محلول اليود البوتاسي، فيلاحظ لون أزرق غامق (أو بنفسجي مزرق) يزول بالتسخين ويعود بالتبريد.



المبدأ: يشكل اليود معقداً لونياً مع عديدات السكاكر، فالنشاء يعطي لوناً أزرقاً مع اليود، بينما الغليكوجين يعطي مع اليود معقداً بلون بني محمر.

المواد: محلول اليود ← يضاف 0.005 ن من محلول اليود إلى 3٪ من محلول يود البوتاسيوم إلى محلول 1٪ من الغلوكوز، السكروز، النشاء، الغليكوجين، السيللوز....

العمل:

1. نضع 1 مل من المحلول السكري.
2. يضاف لها 4-5 قطرات من محلول اليود ويمزج جيداً.

النتيجة: يلاحظ تشكّل معقد اللون الأزرق مع النشاء، ومعقّد اللون البني المحمر مع الغليكوجين.